

S PN=JP 9255577

S2 1 PN=JP 925577

?T S2/7/ALL

2/7/1

DIALOG(R)File 352:Derwent WPI

(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

011556220

WPI Acc No: 1997-532701/199749

Interleukin-12 inducers - comprise sulphated oligo-saccharide glycoside formed by glycoside linkage of monosaccharide

Patent Assignee: DAINIPPON INK & CHEM INC (DNIN)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 9255577	A	19970930	JP 9672146	A	19960327	199749 B

Priority Applications (No Type Date): JP 9672146 A 19960327

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 9255577	A	26	A61K-031/70	

Abstract (Basic): JP 9255577 A

Interleukin-12 (IL-12) inducers contg. as active ingredient a sulphated oligosaccharide glycoside or its salt in which the hydrogen of 1-hydroxy of the reducing terminal sugar of oligosaccharide formed by glycoside linkage of monosaccharides is substituted by an aglycon selected from alkyl, alkylphenyl and alkoxyphenyl and 0 - 80% of the other hydroxy hydrogens is acylated by a gp. of formula -C(O)-A-C(O)O-CH(OC(O)R)₂ (I) or -C(O)-A-C(O)O-CH₂CH(OC(O)R)₂ (II)[where R = 1 C-18C alkyl or opt. substitd. phenyl; A = a gp. of formula -(CH₂)_n(C(Me)₂)_m- (III) (n = 1 - 12; m = 0 or 1) or phenylene], and in which 100- 20% of the hydrogens of sugar hydroxy gps. are sulphated, are new.

USE - The production of IL-12 by peripheral blood monocytes on stimulation with Staphylococcus aureus or lipopolysaccharides is promoted by sulphated oligosaccharide glycoside.

ADVANTAGE - The IL-12 inducers are very safe since they exhibit very low toxicity (no lethal case in mice (p.o.) at 1 g/kg dose) and low anti-coagulation for blood.

Dwg.0/2

Derwent Class: B04

International Patent Class (Main): A61K-031/70

International Patent Class (Additional): A61K-031/725; C07H-015/04; C07H-015/203

?

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

Doc. 2 on IPER

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09255577 A**(43) Date of publication of application: **30 . 09 . 97**

(51) Int. Cl

A61K 31/70
A61K 31/725
// C07H 15/04
C07H 15/203

(21) Application number: **08072146**(22) Date of filing: **27 . 03 . 96**(71) Applicant: **DAINIPPON INK & CHEM INC**

(72) Inventor: **INASAWA KAZUHIKO**
SHOJI TADAO
ITO MASAHIKO

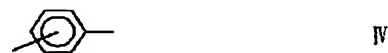
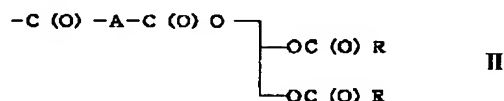
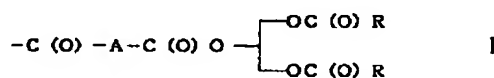
(54) **AGENT FOR INDUCING INTERLEUKIN-12**

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an inducing agent containing a compound capable of increasing the production of the interleukin-12 (hereinafter IL-12) from peripheral blood monocytes in the presence of irritation as an active ingredient, low in toxicity and capable of being orally administered.

SOLUTION: This agent for inducing interleukin-12 contains a sulfated oligosaccharide glycoside in which the hydrogen atom of the 1-hydroxyl group of the reducing terminal saccharide of the oligosaccharide comprising monosaccharides bound to each other through glycoside bonds is replaced with an aglycon selected from the group consisting of an alkyl, an alkylphenyl and an alkoxyphenyl; 0-80% of the hydrogen atoms of the remaining hydroxyl groups are acylated with a group of formula I or II {R is a 1-18C alkyl, phenyl; A is a group of formula III [(n) is a natural number of 1-12; (m) is 0, 1] or formula IV}; and the hydrogen atoms of the saccharide hydroxyl groups are sulfated; or its physiologically acceptable salt as an active ingredient. The glycoside bonds are especially preferably $\beta(1\rightarrow3)$ or $\beta(1\rightarrow4)$ bonds.



(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-255577

(43)公開日 平成9年(1997)9月30日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/70	A E D		A 6 1 K 31/70	A E D
31/725	A B D		31/725	A B D
// C 0 7 H 15/04			C 0 7 H 15/04	A
15/203			15/203	

審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全 26 頁)

(21)出願番号 特願平8-72146

(22)出願日 平成8年(1996)3月27日

(71)出願人 000002886

大日本インキ化学工業株式会社

東京都板橋区坂下3丁目35番58号

(72)発明者 稲沢 和彦

山梨県甲府市伊勢1-2-33-105

(72)発明者 東海林 忠生

千葉県佐倉市王子台6-36-13

(72)発明者 伊藤 正彦

福島県福島市渡利七社宮74-1

(74)代理人 弁理士 高橋 勝利

(54)【発明の名称】 インターリュウキン-12誘導剤

(57)【要約】

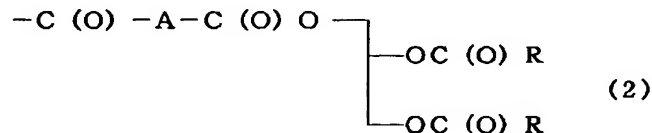
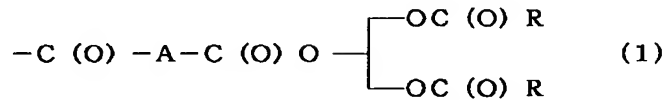
【課題】優れたインターリュウキン-12誘導剤を提供する。

【解決手段】硫酸化オリゴ糖配糖体を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【効果】末梢血単核球細胞を本発明の化合物共存下で黄色ブドウ状球菌により刺激するとインターリュウキン12が誘導される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 単糖がグリコシド結合してなるオリゴ糖の還元末端糖1位の水酸基の水素が、アルキル基、アルキルフェニル基及びアルコキシフェニル基から成る群より選ばれるアグリコンで置換され、残りの水酸基の水素原子の0～80%が、下記一般式(1)または(2)に*



(ただし、式(1)、(2)中、Rは炭素数1～18のアルキル基、又は環上に置換基があっても良いフェニル基を表し、Aは下記一般式(3)または(4)を表わす。)

【化2】



(4)

(ただし、式(3)中、nは1から12の自然数を、mは0または1を表す)

【請求項2】 オリゴ糖が3～20の同一の単糖からなるオリゴ糖である請求項1記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【請求項3】 オリゴ糖の構成単糖がグルコース、ガラクトース、マンノース、タロース、イドース、アルトロース、アロース、グロース、キシロース、アラビノース、ラムノース、フコース、フラクトース、リボース、デオキシリボースから成る群から選ばれた単糖である請求項1又は2記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【請求項4】 オリゴ糖がβ(1→3)結合からなるオリゴ糖である請求項3記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【請求項5】 アグリコンが炭素数1～24のアルキル基である請求項1～4のいずれか1に記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【請求項6】 一般式(1)もしくは(2)中、Rが炭素数6～12のアルキル基又はベンゾイル基である請求項1～5のいずれか1に記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又※50

*よりでアシル化されており、かつ糖水酸基の水素原子の100～20%が硫酸エステル化された硫酸化オリゴ糖配糖体及びその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【化1】

※はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【請求項7】 一般式(1)もしくは(2)中、Aが、一般式(3)で示されるものであり、かつ一般式(3)中nが2～8の自然数であり、mが0の請求項6記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は免疫賦活性を示すサイトカインの一種であるインターリュウキン-12 (Interleukin-12) を誘導する化合物に関する。

【0002】

【従来の技術】 インターリュウキン-12 (以下、IL-12と略記する) はナチュラルキラー細胞刺激因子とも呼ばれ70-kDのヘテロダイマーである (A. ダンドレア等、J. Exp. Med. 176巻1387ページ、1992年)。P. スコット、サイエンス (=Science)、260巻496ページ、1993年、M. クレリシ等、同誌、262巻1721ページ、1993年、S. H. チャン等、J. Exp. Med. 173巻869ページ、1991年等には、IL-12の細胞性免疫機構を誘導することにより、HIVなどのウイルス感染及び発症抑制に有効であることを示唆する記載がある。即ち、IL-12の作用として、バクテリア、ウイルスなどの刺激によりマクロファージがサイトカインの一種であるIL-12を産生し、細胞性免疫に関与するTh1細胞の増殖に効果を示すことが挙げられている。また、HIV感染者の末梢血単核球細胞を刺激する事によりIL-12が産生し、これにより、IL-2応答やT細胞の増殖が復元され、その結果細胞性免疫が誘導されるという見解がある (サイエンス、262巻1721ページ、1993年)。しかし、生体が産生しない物質でIL-12の産生を増強させる化合物は知られていない。また、リコンビナントIL-12の使用は極めて高価で実際の治療には使用しにくい。また、オリゴ糖配糖

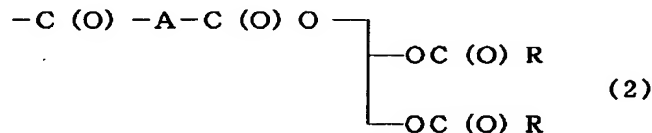
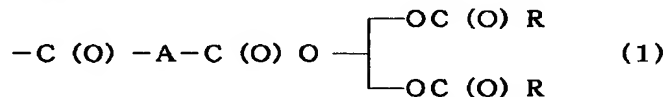
体については、本発明者らによる、特開平5-78382号、特開平5-279381号に抗ウイルス活性を有することの記載があるが、該化合物がIL-12の誘導効果を有することは全く記載されていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】上記欠点に鑑み、本発明が解決しようとする課題は、刺激の存在下に末梢血単核球細胞よりIL-12の産生を増加させる化合物を見出し、これを有効成分とするIL-12誘導剤を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、細胞性免疫を賦活化させるIL-12を誘導する化合物について鋭意研究を行った結果、硫酸化アルキルオリゴ糖及びその生理学的に許容される塩、ならびに硫酸化オリゴ糖配糖体とジアシルグリセリンが二塩基酸を介してエステル*



(ただし、式(1)、(2)中、Rは炭素数1~18のアルキル基、又は環上に置換基があっても良いフェニル基を表し、Aは下記一般式(3)または(4)を表わす。)

【0007】

【化4】



(4)

(ただし、式(3)中、nは1から12の自然数を、mは0または1を表す)

【0008】② オリゴ糖が3~20の同一の単糖からなるオリゴ糖である①記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

③ オリゴ糖の構成単糖がグルコース、ガラクトース、マンノース、タロース、イドース、アルトロース、アロース、グロース、キシロース、アラビノース、ラムノース、フコース、フラクトース、リボース、デオキシリボースから成る群から選ばれた単糖である①又は②記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

④ オリゴ糖がβ(1→3)結合からなるオリゴ糖であ

* 結合した化合物及びその生理学的に許容される塩が、末梢血単核球細胞よりIL-12の産生を増加させる事を見出し本発明を完成するに至った。

【0005】即ち、本発明は、

① 単糖がグリコシド結合してなるオリゴ糖の還元末端糖1位の水酸基の水素が、アルキル基、アルキルフェニル基及びアルコキシフェニル基から成る群より選ばれるアグリコンで置換され、残りの水酸基の水素原子の0~80%が、下記一般式(1)または(2)によりでアシル化されており、かつ糖水酸基の水素原子の100~200%が硫酸エステル化された硫酸化オリゴ糖配糖体及びその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

【0006】

【化3】

る③記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

⑤ アグリコンが炭素数1~24のアルキル基である①~④のいずれか1に記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

⑥ 一般式(1)もしくは(2)中、Rが炭素数6~12のアルキル基又はベンゾイル基である請求項①~⑤のいずれか1に記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。

⑦ 一般式(1)もしくは(2)中、Aが、一般式(3)で示されるものであり、かつ一般式(3)中nが2~8の自然数であり、mが0の⑥記載の硫酸化オリゴ糖配糖体又はその生理学的に許容される塩を有効成分とするインターリュウキン-12誘導剤。に関するものである。

【0009】本発明化合物におけるオリゴ糖を構成する単糖数、即ち糖鎖の長さは、使用する糖の種類や、アグリコン等により異なるが、3糖より長い糖鎖が好ましく、抗凝血作用や、生体適合性等の観点から、通常20糖以下が好ましい。即ち3~20糖が好ましく、3~12糖がより好ましく、3~8糖が最も好ましい。

【0010】本発明化合物のオリゴ糖部は、同一、又は複数の単糖を構成成分とする。好ましくは同一又は2種

の単糖を構成成分とするものが挙げられ、より好ましくは同一の単糖を構成成分とするものが挙げられる。単糖としては各種単糖を使用出来るが、グルコース、ガラクトース、マンノース、タロース、イドース、アルトロース、アロース、グロース、キシロース、アラビノース、ラムノース、フコース、フラクトース、リボース、デオキシリボース等が好ましい。また、アミノ基を有するグルコサミン、ガラクトサミン等の単糖であっても良い。特にグルコース及びガラクトースが原料糖として入手しやすく好ましい。

【0011】本発明化合物の単糖間のグリコシド結合は、(1→2)、(1→3)、(1→4)、(1→5)、(1→6)の何れでも良く、結合様式もα結合、β結合の何れであっても良い。また、分岐糖鎖も利用出来る。中でも、β(1→3)、β(1→4)、α(1→4)、α(1→6)結合糖が好ましい。特に薬剤として投与した際の持続活性を保つためにはβ(1→3)糖やβ(1→4)糖が利用し易い。

【0012】以上の点から、オリゴ糖の糖鎖としては、例えばグルコースの3位が次のグルコースの1位とβ結合してなるオリゴ糖（以下ラミナリオリゴ糖と略記する）、即ちカードラン、ラミナラン等の多糖を分解したオリゴ糖や、乳糖のガラクトース部位の4位にガラクトースの1位とβ結合し、順次オリゴ糖末端ガラクトースの4位にガラクトースがβ(1→4)結合してなるオリゴ糖（以下ガラクトオリゴ糖と略記する）、並びにマルトオリゴ糖のようにグルコースがα(1→4)結合してなるオリゴ糖等が好ましく、イソマルトオリゴ糖（グルコースのα(1→6)結合オリゴ糖）などのオリゴ糖も利用できる。その他、マンノース系オリゴ糖、β(1→6)オリゴグルコース、キシラン系、シゾフィラン系、レンチナン系、ガラクトタン系、プルラン系等の各種オリゴ糖も使用することができる。更にオリゴ糖の水酸基の一部がアミノ基や置換アミノ基に置き換わっていてもよい。特に好ましくは生体内で比較的分解されにくいラミナリオリゴ糖やガラクトオリゴ糖が挙げられる。特に好ましくはラミナリオリゴ糖である。

【0013】本発明化合物は、上記のようなオリゴ糖の還元末端糖1位の水酸基の水素が、アグリコンにより置換されている。アグリコンとしては、アルキル基、アル* 40

* キルフェニル基、アルコキシフェニル基が挙げられる。

【0014】アルキル基としては、炭素数1~24、好ましくは4~22、更に好ましくは8~12の直鎖又は分岐のアルキル基が挙げられる。例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、3級ブチル、ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、2-オクチル、2-エチルヘキシル、2, 2, 3, 3-テトラメチルブチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、オクタデシル、エイコシル、ドコシル、トリコシル等を挙げる事が出来る。

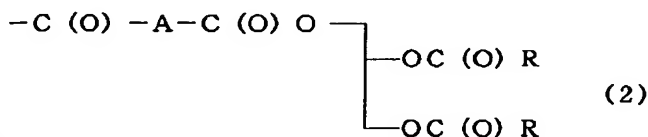
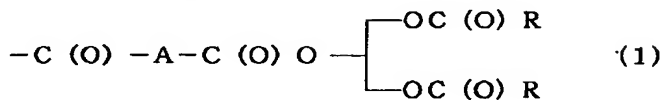
【0015】アルキルフェニル基としては、炭素数1~10、好ましくは4~8の直鎖もしくは分岐のアルキル基で置換されたフェニル基が挙げられる。例えば、o-メチルフェニル、p-メチルフェニル、m-メチルフェニル、エチルフェニル、プロピルフェニル、ブチルフェニル、ペンチルフェニル、ヘキシルフェニル、ヘプチルフェニル、オクチルフェニル、ノニルフェニル、デシルフェニル、ドデシルフェニル、テトラデシルフェニル、ヘキサデシルフェニル、オクタデシルフェニル、エイコシルフェニル、トリコシルフェニル等が挙げられる。アルキル基の置換位置としてはフェニル基の4位が好ましい。

【0016】アルコキシフェニル基としては、炭素数1~12、好ましくは4~8の直鎖もしくは分岐のアルコキシ基で置換されたフェニル基が挙げられる。例えば、メトキシフェニル、エトキシフェニル、プロポキシフェニル、ブトキシフェニル、ペンチルオキシフェニル、ヘキシルオキシフェニル、ヘプチルオキシフェニル、オクチルオキシフェニル、ノニルオキシフェニル、デシルオキシフェニル、ドデシルオキシフェニル、テトラデシルオキシフェニル、ヘキサデシルオキシフェニル、オクタデシルオキシフェニル、エイコシルオキシフェニル、トリコシルオキシフェニル等が挙げられる。アルコキシ基の置換位置としてはフェニル基の4位が好ましい。

【0017】本発明化合物は、オリゴ糖配糖体の還元末端糖1位以外の糖水酸基（以下配糖体水酸基と略記する）の0~80%が、一般式(1)又は(2)

【0018】

【化5】



【0019】で示される二塩基酸モノー（ジアシルグリセリン）エステル基によりアシル化されている。上記

一般式(1)及び(2)のRとしては、炭素数1~18のアルキル基、あるいは環上に置換基があってもよいフ

フェニル基を表わす。ここでいう炭素数1~18のアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、オクタデシル等が挙げられ、好ましくは6~18のアルキル基が挙げられる。

【0020】環上に置換基があってもよいフェニル基としては、例えばフェニル、p-メチルフェニル、p-エチルフェニル、p-ブチルフェニル、p-オクチルフェニル、p-フルオロフェニル、p-クロロフェニル等の環上に置換基があってもよいフェニル基が挙げられる。好ましくはフェニル基あるいはアルキルフェニル基が挙げられる。

【0021】Rとして特に好ましくは、フェニル基が挙げられる。また一般式(1)、(2)のAは、下記一般式(3)又は(4)である。

【0022】

【化6】



(4)

(式(3)中、nは1~18の自然数であり、mは0又は1を表す。)

【0023】本願化合物は、mが0のときはnは1~10が好ましく、2~8がより好ましい。mが1のときはnは1~9が好ましく、3~6がより好ましい。また式(4)は結合がo-、m-、p-位の何れであっても良い。Aとして好ましくは一般式(3)であり、特にm=0であり、n=2~8であるものが好ましく挙げられる。

【0024】本発明の有効成分としては、全くアシル化されていない化合物であってもよいし、アシル化されているものであってもよい。しかしながら、アシル化されている化合物は、アシル化されていない化合物に比べて、経口吸収性が向上するため、経口投与する場合は、アシル化されている化合物がより好ましい。尚、アシル化されている場合、アシル化されている水酸基の位置に関しては任意である。

【0025】アシル化後、未反応で残った配糖体あるいは、アシル化していない配糖体中の水酸基を硫酸エステル化することにより、目的とする本発明化合物が得られる。即ち、配糖体水酸基の20~100%が硫酸エステル化されていれば良い。尚、アシル化されていない全ての水酸基が必ずしも硫酸エステル化されている必要はない。また硫酸エステル化されている位置は、特に問題ではなく、任意の位置でかまわない。硫酸エステルの対イオンとしては、生理学的に許容される陽イオンならいか

なるものでも使用でき、例えば、通常用いられるナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩などの塩の形で最終的に取り出すことができる。また、この際硫酸エステルの対イオンとして水素イオンが混在していても使用可能である。

【0026】本発明の硫酸化オリゴ糖配糖体のアシル化の割合(アシル化度)及び硫酸エステル化の割合(硫酸化度)は次のように計算できる。例えば、ガラクトース5個よりなるオリゴ糖配糖体の場合、アシル化可能な水酸基は16個である。このうち4個が一般式(1)又は(2)によりアシル化を受けたとすると、

【0027】

【数1】 $(4/16) \times 100 = 25 (\%)$

となり、25%がアシル化された事(アシル化度25%)になる。そして、引き続き硫酸化し、8個の水酸基が硫酸化を受けた場合、本発明の記載では

【0028】

【数2】 $(8/16) \times 100 = 50 (\%)$

となり、硫酸化度50%と記載する。これは、糖鎖1分子単位でのアシル化度と硫酸化度が明確になるのでこのように記載した。

【0029】次に本発明化合物のアシル化度の測定について説明する。本発明化合物のアシル化度は核磁気共鳴スペクトルを測定することにより配糖体アグリコンのプロトンと二塩基酸モノー(ジアシルグリセリン)エステルのプロトン比から計算できる。計算方法は原料オリゴ糖配糖体の未反応水酸基数に対しいくつかの二塩基酸モノー(ジアシルグリセリン)エステル基が導入されたかを核磁気共鳴スペクトルから求めその比率をもって表す。例えば、原料配糖体がラミナリペンタオシドでは未反応水酸基が16個存在しているので、核磁気共鳴スペクトルから二塩基酸モノー(ジアシルグリセリン)エステル基が糖鎖中に4個導入されると、

【0030】

【数3】 $(4/16) \times 100 = 25 \%$

となり、25%導入されたことが判る。

【0031】また本発明化合物の硫酸化度の測定について説明する。まず、元素分析法により化合物中の硫黄量/炭素量=αを求める。化合物の炭素原子数は硫酸化反応により変化しないので、下式により硫黄原子の個数sが計算できる。

【0032】

【数4】 $32.06s/12.01C = \alpha$

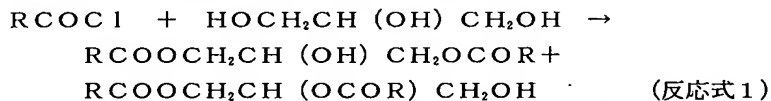
(ただし、炭素の原子量=12.01、硫黄の原子量=32.06、分子中の炭素原子の個数をCとする。)従って、原料配糖体中の配糖体水酸基の数をnとすると、硫酸化度は、

【0033】

【数5】 $(s/n) \times 100 (\%)$

で示すことができる。

【0034】次に、本願化合物の一般的な製造方法について該略するが、この方法が唯一の合成方法ではない。まず、以下にオリゴ糖の配糖体の製造方法について記載する。オリゴ糖を酢酸ナトリウム存在下、無水酢酸による常法によって目的とする糖の全ての水酸基をアセチル化し、パーアセテートとする。次にルイス酸（例えば、塩化亜鉛、三弗化ほうそエーテル、四塩化錫、四塩化チタン、塩化鉄、トリメチルシリルトリフレートなど）や、プロトン酸（例えば、硫酸、パラトルエンスルホン酸等）等の酸触媒をパーアセテートに対し0.1～1.5モル使用し、この酸触媒の存在下、塩化メチレン、トルエン、キシレン、ジメトキシエタン等の非プロトン系溶媒中、アグリコンとするアルコール、フェノール類と前記のパーアセテートとを-30℃から溶媒の沸点の範囲の温度で0.5～30時間反応させる。反応後、常法により後処理し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー法により精製し配糖体を得る事ができる。配糖体のアノマー比は反応条件により異なるが、主としてβ体が得られる。製造方法及び触媒の選択あるいは精製工程の操作により、α、βのアノマー比を調節できる。勿論α体でも以下の反応を実施する事に問題はない。このようにして得られる配糖体パーアセチル化物は通常の方法、例えばメタノール中ナトリウムエトキシドで室温～50℃の*



【0038】（第二工程）次に、第一工程で得られたジアシルグリセリンを、必要とする二塩基酸（一般式（5））

【0039】

【化8】 $\text{HOOC}-\text{A}-\text{COOH}$ (5)

【0041】具体的には、一般式（5）で示される二塩基酸を、常法により塩化チオニル中で反応させ、酸クロライドとし、塩化チオニルにより対応する酸クロライドとし、この酸クロライドと、これと等モル量の第一工程で合成したジアシルグリセリンとを、第一工程の合成方法と同様に反応させる。即ち、塩化メチレンなどの溶媒に溶解した二塩基酸塩化物を、ピリジンなどの溶媒に溶解した二塩基酸塩化物と等モルのジアシルグリセリン中に滴下、反応させる。第一工程と同様に反応、後処理し、必要に応じカラムクロマトグラフィー法、再沈殿法により精製を行い目的物、二塩基酸モノジアシルグリセリンエステルを50～70%の収率で得ることがで★50

* 反応温度で脱アセチル化し、目的とする配糖体を得る事ができる。アシル化度0の化合物はこのように得られた配糖体を後述のように硫酸化する事で製造できる。

【0035】次にアシル化された化合物の製造方法について説明する。ここではまず、一般式（1）又は（2）で示される二塩基酸モノ（ジアシルグリセリン）エステル基の合成について説明する。以下、特に断りの無い限り、A及びRは一般式（1）、（2）の定義と同様である。

【0036】（第一工程）グリセリンをピリジンに溶解させ、必要とするカルボン酸クロリド（ RCOCl ）をグリセリンの2～2.4倍モル使用し、塩化メチレン、クロロホルムなどの溶媒に溶解させ、室温ないし氷冷下にグリセリンピリジン溶液中に滴下し、その後室温で数時間～一晩反応させる。溶媒濃縮後塩化メチレンに溶解させ通常の後処理を行い、シリカゲルカラムクロマトグラフィー法により精製し、1,3-ジアシルグリセリンと1,2-ジアシルグリセリンを分離精製することにより概ね1,3-ジアシルグリセリンは40～60%の収率で、1,2-ジアシルグリセリンは10～20%の収率で得ることができる（反応式1）。

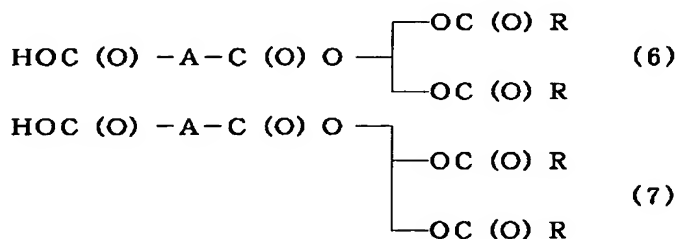
【0037】

【化7】

※と反応させ、一般式（6）又は（7）の化合物を合成する。

【0040】

【化9】



★きる。

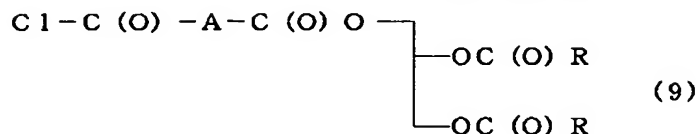
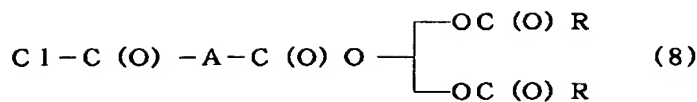
【0042】（第三工程）次に第二工程で製造した二塩基酸モノジアシルグリセリンエステルによるオリゴ糖配糖体のアシル化を行う。塩化チオニル中で第二工程の反応と同様に、二塩基酸モノジアシルグリセリンエステルのカルボキシル基をカルボニルクロリドに置換する。方法的には第一、第二工程と全く同様に、一般式（6）又は（7）を塩化チオニルで反応させ、後処理を行い目的物（8）又は（9）を得る。

【0043】

【化10】

11

12



【0044】このようにして得られた(8)又は(9)はオリゴ糖配糖体と反応させる。反応モル比はオリゴ糖配糖体中に何分子の(8)又は(9)由来のアシル基を導入するかによって決まる。例えばラミナリペンタオシドの場合は未反応の水酸基が1分子中に16個存在するので、糖鎖中に4個の(8)又は(9)由来のアシル基を導入しようとする場合であればラミナリペンタオシド1モルに対し4〜4.4モルの(8)又は(9)を用いて反応させる。即ち、概ね必要量と等量から10%増しの量を用いアシル化する事により目的物を収率よく得ることができる。反応方法はこれ迄の第一、第二工程のアシル化方法と全く同様である。

【0045】(第四工程)

硫酸エステル化反応

第三工程で製造したオリゴ糖配糖体はピリジン、N,N-ジメチルホルムアミドなどに溶解させ、ここに、三酸化硫黄ピリジン錯体、三酸化硫黄トリエチルアミン錯体などの硫酸化剤をオリゴ糖配糖体アシル化物中の未反応水酸基の数に合わせ、若しくはそれより過剰の量を加え、室温から100℃、好ましくは室温から88℃にて1時間から48時間反応させる。反応時間は反応温度により変わるが室温で行うときには概ね24〜48時間、加熱して反応させる際には2〜6時間の反応が好ましい。反応終了後は生成物の物性により後処理が若干変わる。

【0046】第四工程-1

硫酸エステル化後、反応物が反応溶媒中に溶解している場合：硫酸化反応液に、体積で3〜5倍量のイオン交換水若しくは蒸留水を加え、攪拌し水素イオン濃度を苛性ソーダ水溶液、炭酸ソーダ水溶液などのアルカリ水溶液を用い概ね7〜8に調整する。調整後、溶媒等を減圧下に濃縮し反応溶媒をほぼ完全に除去した。残渣に重量比で5〜20倍量のイオン交換水若しくは蒸留水を加え溶解させ希塩酸で水素イオン濃度を3〜5とし、塩化メチレン、n-ヘキサン、エーテルなどの溶媒を用い、抽出によって目的物水溶液から未反応原料カルボン酸を除去した。有機溶媒による抽出後の水溶液は再度苛性ソーダ水溶液、炭酸ソーダ水溶液などのアルカリ水溶液を用い、水素イオン濃度(pH)を6.8〜7.8に、好ましくは7.0〜7.5に調整する。調整後、減圧下に水分を留去し乾燥させた。乾燥後の残渣に重量比で5〜20倍量のメタノールを加えよく攪拌し不溶物を濾過した。ろ液のメタノール溶液は濃縮した後少量の水に溶解

させ、凍結乾燥を行って目的物を得た。

【0047】第四工程-2

硫酸エステル化後、反応物が反応溶媒中より沈殿している場合：沈殿物をデカンテーションにより溶媒から分離し、重量比で3〜10倍量のイオン交換水若しくは蒸留水を加え、攪拌し水素イオン濃度を苛性ソーダ水溶液、炭酸ソーダ水溶液などのアルカリ水溶液を用い概ね7〜8に調整する。調整後、溶媒等を減圧下に濃縮し反応溶媒をほぼ完全に除去した。残渣に重量比で5〜20倍量のイオン交換水若しくは蒸留水を加え溶解させ、希塩酸で水素イオン濃度を3〜5とし、塩化メチレン、n-ヘキサン、エーテルなどの溶媒を用い、抽出によって目的物水溶液から未反応原料カルボン酸を除去した。有機溶媒による抽出後の水溶液は再度苛性ソーダ水溶液、炭酸ソーダ水溶液などのアルカリ水溶液を用い、水素イオン濃度(pH)を6.8〜7.8に、好ましくは7.0〜7.5に調整する。調整後、減圧下に水分を留去し乾燥させた。乾燥後の残渣に重量比で5〜20倍量のメタノールを加えよく攪拌し不溶物を濾過した。ろ液のメタノール溶液は濃縮した後少量の水に溶解させ、凍結乾燥を行って目的物を得た。

【0048】尚、さらに精製を行う場合には第四工程-1、2で得られた目的物をイオン交換膜法、イオン交換カラム法、逆浸透法、限外ろ過法、再沈澱法などにより精製する事ができる。硫酸エステルの対カチオンを変更するには中和剤を変更して行う方法、イオン交換樹脂によるカチオン交換法などによって変更することが可能である。

【0049】以下に、このようにして製造できる化合物の具体的名称を示すが、この様にして製造できる硫酸化オリゴ糖配糖体のアシル化度、硫酸化度は製造条件によって変化するので、以下には一般的な名称の記載にとどめ、各官能基の個数については省略した。例えば、硫酸化とは糖水酸基の一部が硫酸エステル化され硫酸化度が20%〜100%の化合物の一つであることを意味する。また、対カチオンは省略して記載したが、生理学的に許容できる塩の形が含まれる。更に、O-[4-{(1,3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル]等のアシル基の意味は、糖水酸基が4-{(1,3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル等でアシル化されている度合いが80%以下の化合物の一つを意味するものである。

【0050】糖鎖に関しては、グルコースの β (1 \rightarrow 3) 結合オリゴ糖はラミナリオリゴ糖と慣用的に称し、ラミナリペンタオシドとは、糖鎖5糖のラミナリオリゴ糖を表わす。ペンタオシドは糖鎖5糖のラミナリオリゴ糖を表わす。またグルコースの α (1 \rightarrow 4) 結合オリゴ糖はマルトオリゴ糖と慣用的に称し、マルトペンタオシドとは、糖鎖5糖のマルトオリゴ糖を表わす。更にグルコースの α (1 \rightarrow 6) 結合オリゴ糖はイソマルトオリゴ糖と呼ばれ、イソマルトペンタオシドとは糖鎖5糖のイソマルトオリゴ糖を表わす。

【0051】以下の具体的化合物として、代表として5糖 (ペンタオース) を記載しているが、3糖から20糖についても同様である。また、アグリコンについても代表としてドデシルを記載しているが、他のアグリコン (例えば、オクチル基、メチル基等のアルキル基、アルキルフェニル基、アルコキシフェニル基) も同じように用いることができる。

【0052】硫酸化 ドデシル ラミナリペンタオシド
硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-ブチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-フルオロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-クロロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-アセチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-ブタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-オクチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-デカノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブ$

タノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-オクチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

【0053】硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-メチルベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-プロピルベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-ブチルベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-オクチルベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-フルオロベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-クロロベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-アセチルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-ブタノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-オクチルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-デカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-p-オクチルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

【0054】硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-ブ$

10

20

30

40

50

タノイル] マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジードデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジエオクタデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ マルトペンタオシド

【0060】硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-メ
チルベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2,
2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペン
タオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{ロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-$
 $2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリ
 ペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-ブチルベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-オ
クチルベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ} -
2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリ
ペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-フルオロベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-クロベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ}\alpha\text{-アセチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-ペンタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド 40

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジエオクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジードデカノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジエオクタデカノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオ

シド

【0061】硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 2-ジベンゾイルオキシ)-3-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 2-ジ-*p*-メ
チルベンゾイルオキシ)-3-プロピルオキシ}-2,
2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペン
タオシド

10 硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 プロピルベンゾイルオキシ) $-3\text{-プロピルオキシ}\}-$
 $2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリ
 ペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-ブチルベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 2-ジ-p-オクチルベンゾイルオキシ)-3-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 2-ジ-*p*-フルオロベンゾイルオキシ)-3-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-クロベンゾイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

30 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-アセチルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジエペントノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジ}\alpha\text{-オクタノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジードデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジエオクタデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

【0062】硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] マルトペンタオシド

50 硫酸化 ドデシル O-[4-(1,3-ジ-p-メ

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-クロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ イソマルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジメチルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ イソマルトペンタオシド

硫酸化　ドデシル　O-[4-{(1, 2-ジエオクタノイルオキシ)-3-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] イソマルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジードデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ イソマルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジエオクタデカノイルオキシ})-3\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ イソマルトペンタオシド

【0066】硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3$
 $-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ\}-2,$
 $2-ジメチル-4-オキソペンタノイル]$ ラミナリペン
 タオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-(1,3\text{-ジ}p\text{-}$
 $\text{ロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ})-$
 $2,2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリ
 ペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-ブチルベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-オクチルベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-2, 2-ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-(1,3\text{-ジ}p\text{-フルオロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ})-2,2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-クロロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル-4-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ}\alpha\text{-アセチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジペンタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-2, 2\text{-ジメチル}-4\text{-オキソペンタノイル}]$ ラミナリペンタオシド

硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 2-ジエオクタ
デカノイルオキシ) -3-プロピルオキシ} -2, 2-
ジメチル-4-オキソペンタノイル] ラミナリペンタオ
シド

【0068】硫酸化 ドデシル O-[4-{(1, 3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-オキソヘキサノイル] マルトペンタオシド

硫酸化　ドデシル　O-[4-{(1, 3-ジ-*p*-メ
チルベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-
オキソヘキサノイル] マルトペンタオシド

10 オキソヘキサノイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-}$
 プロピルベンゾイルオキシ) $-2\text{-プロピルオキシ})-4$
 $- \text{オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-ブチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}]-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

20 硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-フルオロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}]-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-クロベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ}\alpha\text{-アセチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

30 硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジードデカノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジエオクタデカノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソヘキサノイル}]$ マルトペンタオシド

【0069】硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソデカノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-p-メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソデカノイル}]$ マルトペンタオシド

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3\text{-ジ-}p\text{-}$
 プロピルベンゾイルオキシ) -2- プロピルオキシ} -4
 -オキシソジカノール] マルトペンタオシド

50 硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3-\text{ジ-}p\text{-ブ}$

硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1,3\text{-ジ-アセチルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキソブタノイル}]$ イソマルトペンタオシド

【0072】硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 3$
50 $-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ]-4-$

ルオロベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシソデカノイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-ク
 ロロベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシソデカノイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-アセチ
 ルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシソデカノ
 イル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-デカノ
 イルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシソデカ
 ノイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-オクタ
 ノイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシソデ
 カノイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-ドデカ
 ノイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシソデ
 カノイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-オクタ
 デカノイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシ
 ソデカノイル] イソマルトペンタオシド
 【0074】 硫酸化 ドデシル β-D-ガラクトピラノ
 シル(1→4)-β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グル
 コピラノシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジベンゾイ
 ルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-オキシブタノ
 イル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-ガラクト
 ピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-メ
 チルベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシブタノイル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β
 -D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-プ
 ロピルベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシブタノイル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-
 β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシ
 ド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-ブ
 チルベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシブタノイル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β
 -D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-オ
 クチルベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシブタノイル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-
 β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシ
 ド
 硫酸化 ドデシル O-[4- { (1, 3-ジ-p-フ
 ルオロベンゾイルオキシ) - 2-プロピルオキシ] - 4-
 -オキシブタノイル] β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-
 β-D-ガラクトピラノシル(1→4)-β-D-グルコピラノシ
 ド

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1,3\text{-ジ-p-オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシ}\}-4\text{-オキシデカノイル}] \beta\text{-D-ガラクトピラノシル}(1\rightarrow4)\text{-}$

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ-ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボニル}\} \text{ベンゾイル}]$ ラミナリペンタオシド

50 硫酸化 トデシル $\text{O}-[4-\{(1, 3\text{-ジ}\text{-}\text{オクタ$

硫酸化 ドデシル $\text{O}-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-メ}$
50 $\text{チルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ-}$

ル} ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{ロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{チルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 【0085】硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-}$
 $\text{ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[4-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 【0086】硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-}$
 $\text{ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド

ノイルオキシ) -2-プロピルオキシカルボ
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] ラミナリペンタオシド
 【0087】硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-}$
 $\text{ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{メチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] マルトペンタオシド
 【0088】硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-}$
 $\text{ジベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{プロピルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{チルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}p\text{-}$
 $\text{オクチルベンゾイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{ヘキサノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 硫酸化 ドデシル $O-[2-\{(1, 2\text{-ジ-}$
 $\text{オクタノイルオキシ})-2\text{-プロピルオキシカルボ}$
 $\text{ニル}\}$ ベンゾイル] イソマルトペンタオシド
 【0089】本発明による誘導剤は、上記の本願化合物
 を有効成分とする。一般にIL-12は、末梢血単核球
 細胞を黄色ブドウ状球菌類 (*Staphylococcus aureus* 類)、リポポリ多糖 (LPS) などで
 刺激することにより産生される (成内秀雄、医学のあゆ
 み、174巻1062頁1995年)。この時、本発明
 の化合物を共存させておくとその産生量が増加する。本
 発明によるIL-12誘導の作用機序は未だ明らかでは
 ないが、後述の比較例の結果から明かなように、硫酸

化多糖類や、免疫抑制剤（FK506）ではIL-12の産生量が薬剤の存在しないコントロール群よりも減少していることから、糖の長さが主にIL-12の誘導に関与していると推察される。一方、配糖体水酸基の硫酸化度と一般式（1）又は（2）によるアシル化度の差異によって、IL-12の誘導量は大きく変化しないが、特願平7-204401号に記載のように、アシル化度が大きい化合物がより経口吸収性がよいので、経口投与を目的とする場合は、アシル化度が高い化合物を用いることが好ましい。このように、本願化合物は使用目的、投与方法等により適宜選択すればよい。

【0090】本発明によるインターフェロニン-12誘導剤の製剤の形態は、勿論投与方法により異なるが、例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、マイクロスフェア剤、丸剤、液剤、注射薬、シロップ剤、座剤等の通常の製剤形態に製剤化して、経口的及び非経口的に投与する事ができる。該製剤中には有効成分として、本化合物を0.1~100%含有する事が好ましい。これらの製剤中には、医薬品を製造するために用いる慣用の賦形剤および添加剤を用いることができる。慣用の賦形剤としては、例えば蒸留水、生理食塩水、アルコール、ポリエチレングリコール、グリセロールエステル、ゼラチン、炭水化物ステアリン酸マグネシウム、タルク等があげられる。また、慣用の添加剤として、防腐剤、滅菌剤、潤滑剤、コーティング剤、湿潤剤、乳化剤、着色剤、マスキングフレーバー、および芳香剤等があげられる。

【0091】本発明のIL-12誘導剤は、その薬剤の投与形態、投与回数、患者の状態、患者の体重、病気の軽重により変化するが、体重1Kg当たり好ましくは0.1mgから500mg、更に好ましくは0.5mgから50mgを、一日に1~3回投与する事が好ましい。もちろん投与回数も薬剤の形態、患者の状態、体重、病気の軽重により定めればよい。さらに本化合物は、本発明者らによる特開平5-78382号、特開平5-279381号、特願平7-204401号に記載されているように、生体中での毒性が低く、経口投与の場合マウスに1g/kgの投与によっても死亡する事無く、抗凝血活性も低い安全な化合物である。

【0092】

【実施例】以下に実施例により本発明を具体的に説明するが、もとより本発明はこれに限定されるものではない。

（参考合成例1）ドデシル β -D-ラミナリペンタオシドの合成

フラスコ中で、0.55gの酢酸ナトリウムと10mlの無水酢酸を加熱させ、そこに1.003gのラミナリペンタオースを少量ずつ添加した。そして、還流下に2時間反応させた。反応生成物は100gの水中に注ぎ、その後、酢酸エチルにて抽出した。酢酸エチル層は芒硝で乾燥させ、濃縮してシロップ状物のパーアセチルラミ

ナリペンタオースを得た（収率90%以上）。生成物の α/β 比は核磁気共鳴共鳴スペクトル法から、およそ25/75である。

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} = -43.5^\circ$ （ $c = 1.0$ /クロロホルム）（25℃）

【0093】次に、このパーアセチルラミナリペンタオース500mgとn-ドデカノール60mgを、50ml三ツ口フラスコ中にて塩化メチレン25mlに溶解させ、窒素気流下、1ミリモルの四塩化錫を加え室温で22時間反応させた。反応混合物は重曹水溶液に注ぎ、セライトコートしたロートでろ過後、塩化メチレンにて抽出した。塩化メチレン層は芒硝で乾燥させ、濃縮した。濃縮後の残渣はカラムクロマトグラフィー法（シリカゲル：酢酸エチル/ヘキサン）により精製し、薄層クロマトRf値0.72の主成分を集め濃縮した。生成物はn-ドデシルパーアセチル- β -D-ラミナリペンタオシドは0.27gであり、核磁気共鳴共鳴スペクトル法から決定した。

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} = -42.6^\circ$ （ $c = 1.0$ /クロロホルム）（28℃）

【0094】次に、上で合成したパーアセテート配糖体230mgを10mlのメタノールに溶解させ、ここに、0.1規定ナトリウムメトキシドメタノール溶液4.4mlを加え、室温で2.5時間攪拌した。その後、ナトリウムイオンを除去するためにイオン交換樹脂で処理した。イオン交換樹脂をろ過で除去後、メタノール溶液を濃縮し、136mgの目的物を得た。

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} = -16.4^\circ$ （ $c = 0.50$ /メタノール）（30℃）

【0095】（参考合成例2）硫酸化 n-ドデシル β -D-ラミナリペンタオシドの合成

参考合成例1のように合成したn-ドデシル β -D-ラミナリペンタオシドの1.0g、三酸化硫黄ピリジン錯体3.5gを脱水ピリジン中で83℃、2時間反応させた。反応後の生じた沈殿をピリジン層から分離し、室温にてイオン交換水15mlを加え攪拌溶解させた後、0.2規定苛性ソーダ水溶液にて水素イオン濃度を7.5とし、その後、減圧下で濃縮した。残渣はデザリネーションシステムズ社製DESAL-G50逆浸透膜

（0.4m²）を取り付けた逆浸透装置で脱塩圧力10Kg/cm²、反応液タンクの水素イオン濃度を7以下にならないように1規定苛性ソーダ水溶液を随時滴下しながら60分実施した。このようにして得られたタンク溶液は、液量を濃縮で減らした後、凍結乾燥し1.01gの目的物を得た（硫酸化度91.0%）。

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} = -6.4^\circ$ （ $c = 0.50$ /水）（30℃）

【0096】（合成参考例3）硫酸化 ドデシル O-[4-{(1,3-ジードデカノイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル]ラミナリペ

10

20

30

40

50

ンタオシドの合成

0.99 gのn-ドデシル-β-D-ラミナリペンタオシドを30 mlの乾燥ピリジンに溶解させ、ここに、4-[(1, 3-ジラウロイルオキシ) -2-プロピルオキシ]-4-オキソ酪酸塩化物2.9 gを10 mlの塩化メチレンに溶解させた溶液を加え、室温で1時間撹拌した後52~55℃にて4時間反応させた。反応後、330 mlの酢酸エチルに希釈し、100 mlの水にて水洗を3回行い、200 mlの飽和重曹水で2回洗浄し、200 mlの飽和食塩水で1回洗浄した。酢酸エチル層は芒硝で脱水し、減圧下に濃縮し油状生成物3.82 gを得た。これをすべて乾燥ピリジン15 mlに溶解し、減圧下で濃縮し、十分に乾燥させ、さらにこれを乾燥ピリジン100 mlに溶解し80℃に加熱した。ここに8.8 gの三酸化硫黄ピリジン錯体を加え同温度で5時間撹拌反応させた。反応中反応液は均一で、油状物の沈殿は生じなかった。反応後、室温に冷却し、蒸留水300 mlを加え苛性ソーダ水溶液にて反応液の水素イオン濃度を7.1とした。この溶液を減圧下濃縮しほぼ溶媒分を留去した後、300 mlの蒸留水を加え溶解させ、希塩酸水溶液にて水素イオン濃度を3とした。この水溶液をジエチルエーテル100 mlで2回抽出し、抽出後の水層を再度苛性ソーダ水溶液にて水素イオン濃度を7.4とした。

【0097】そして、減圧下で揮発分を留去した後、真空乾燥させた。乾燥後の残渣に、脱水メタノール50 mlを加えよく撹拌し、不溶物を濾過し、目的物のメタノール溶液を得た。これは、減圧下に濃縮し、最後に少量のイオン交換水を加え、凍結させ乾燥させ3.75 gの目的物を得た。核磁気共鳴スペクトルより糖鎖中に2.0個の4-[(1, 3-ジドデカノイルオキシ) -2-プロピルオキシ]-4-オキソブタノイル基が導入され(アシル化率12.5%)、元素分析から硫酸エステルは16個の配糖体水酸基中13個(硫酸化度81.3%)であった。

比旋光度 $[\alpha]_D^{25} = -1.92^\circ$ C=0.51、DMSO 28℃

【0098】(実施例1)

<試験機器>O. D. メーターはLabosystem社、Multiskan[®]BICHROMATICを使用した。IL-12の定量はR&D Systems社製の、Quantikine[™]のHuman IL-12 Immunoassay (Catalog Number D1200) キットを手順書指示通りに使用した。熱不活化Staphylococcus aureus Cowan Strain1 (SAC) は、CALIBIOCHEM[®]製を用いた。

【0099】<試験方法>1薬剤当たり、24穴プレートの3つのウェルを用い、その各ウェルに健常人の600×10⁴個/mlの末梢血単核球細胞(以下、PBM

Cと略記)のRPMI 1640培地懸濁液を500 μリットルを添加した。この3個のウェルの1つには試験濃度の10倍の濃度の薬剤水溶液100 μリットルを加え、残りの2個のウェルには100 μリットルのRPMI 1640培地を加えた。さらに、これら3個のウェルに培養用RPMI 1640培地を400 μリットル加え、全1 mlとした。次に、熱不活化Staphylococcus aureus Cowan Strain1 (SAC) 4マイクロリットル(0.0075 wt/vol%)を、薬剤の入ったウェルともう一個のウェル(陽性対照)に加え、37℃で18時間培養した。即ち、残りの一つのウェルは陰性対照用に用いてある。18時間後に、各ウェルから上清を500マイクロリットル抜き取り、上記、IL-12測定用ELISAキットを用い、キット手順書に記載通りに評価した。定量パネルからのIL-12量とそのときのO. D. 値は図1及び図2のようになり、定量性を確認した。尚、図1は表1用の検量線であり、図2は表2用の検量線である。本試験例で判るように2回の試験を行い、本発明の化合物群のIL-12誘導性を確認した。各試験結果を表1及び表2に示す。

【0100】<試験薬剤>化合物とその名称は次の通りである。

化合物番号1 硫酸化 ドデシル ラミナリペンタオシド(硫酸化度91.0%)

化合物番号2 硫酸化 ドデシル ジーO, O'-[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイルラミナリペンタオシド。(アシル化度=12.5%、硫酸化度81.3%)

化合物番号3 硫酸化 ドデシル O-[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] ラミナリペンタオシド、1.4個[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] 置換体。(アシル化度=8.8%、硫酸化度80.0%)

化合物番号4 硫酸化 ドデシル O-[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] ラミナリペンタオシド、1.7個[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] 置換体。(アシル化度=10.6%、硫酸化度74.2%)

化合物番号5 硫酸化 ドデシル O-[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] ラミナリペンタオシド、2.2個[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] 置換体。(アシル化度=14.4%、硫酸化度74.1%)

化合物番号6 硫酸化 ドデシル O-[4-{ (1, 3-ジベンゾイルオキシ) -2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル] ラミナリペンタオシ

ド、5. 2個[4-{(1, 3-ジベンゾイルオキシ)-2-プロピルオキシ}-4-オキソブタノイル]置換体。(アシル化度=32.5%、硫酸化度62.1%)

比較例1の化合物 和光純薬(株)製デキストラン硫酸(MW=8000)、S%17-19%)

比較例2の化合物 特開平2-145601号公報記載の方法で合成したカードラン硫酸(分子量30000、S%17.1%)

* 比較例3の化合物 藤沢薬品工業(株)製、免疫抑制剤FK-506

【0101】尚、比較例4、6は、IL-12誘導実験において細胞と熱不活化Staphylococcus aureus Cowan Strain1(SAC)のみで行ったもの(陽性対照)であり、比較例5、7は細胞のみの陰性対照である。

【0102】

* 【表1】

化合物	濃度 μg/ml	O. D. 値	IL-12量 pg/ml
化合物番号 1	50	1.209	369
	10	1.200	365
	2	0.872	261
	0.4	0.786	233
化合物番号 2	50	1.729	535
	10	1.278	391
	2	0.651	190
	0.4	0.709	209
比較例1	50	0.178	38.6
	10	0.245	60.1
比較例2	50	0.309	80.6
	10	0.360	96.9
比較例3	5	0.34	90.5
	1	0.314	82.2
比較例4	陽性対照	0.462	130
比較例5	陰性対照	0.028	0

【0103】

【表2】

化合物	濃度 $\mu\text{g}/\text{ml}$	O. D. 値	IL-12量 pg/ml
化合物番号 1	10	0.364	241
	2	0.37	267
	0.4	0.308	199
化合物番号 3	10	0.417	318
	2	0.325	218
	0.4	0.228	112
化合物番号 4	10	0.35	245
	2	0.277	165
	0.4	0.248	133
化合物番号 5	10	0.319	211
	2	0.297	187
	0.4	0.227	106
化合物番号 6	10	0.321	213
	2	0.303	194
	0.4	0.217	99.5
比較例6	陽性対照	0.215	97.3
比較例7	陰性対照	0.134	8.7

【0104】(薬剤製造例) 本発明のインターリュウ
キナーゼ誘導剤の薬剤製造例を以下に記載する。

(薬剤製造例1)

実施例化合物1	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

実施例化合物1を粉碎し、それに乳糖とでんぶんを混合する。そこに10%のでんぶんのりを加え、攪拌し、顆粒を形成させる。顆粒は乾燥し、ふるい分けして、タルクとステアリン酸マグネシウムを加え混合し、通常の方法により打錠して200mgの錠剤を製造した。

【0105】(薬剤製造例2)

実施例化合物2	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

* 実施例化合物2を用い、薬剤製造例1と同様な操作で200mgのインターリュウキナーゼ誘導剤の錠剤を製造した。

【0106】(薬剤製造例3)

実施例化合物3	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

実施例化合物3を用い、薬剤製造例1と同様な操作で200mgのインターリュウキナーゼ誘導剤の錠剤を製造した。

50 【0107】(薬剤製造例4)

実施例化合物4	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

化合物4を用い、薬剤製造例1と同様な操作で200mgのインターリュウキン-12誘導剤の錠剤を製造した。

【0108】(薬剤製造例5)

実施例化合物5	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

実施例化合物5を用い、薬剤製造例1と同様な操作で200mgのインターリュウキン-12誘導剤の錠剤を製造した。

【0109】(薬剤製造例6)

実施例化合物6	50mg
でんぶん	30mg
乳糖	110mg
タルク	7mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg

200mg

実施例化合物6を用い、薬剤製造例1と同様な操作で200mgのインターリュウキン-12誘導剤の錠剤を製造した。

*【0110】(薬剤製造例7) 15mgの実施例化合物1に生理食塩水を加え全量を2mlとし、これをオートクレーブで乾熱滅菌したアンプルに封入し、2mlのインターリュウキン-12誘導剤の液剤を製造した。

【0111】(薬剤製造例8) 15mgの実施例化合物2に生理食塩水を加え全量を10mlとし、これを薬剤製造例7と同様なアンプルに封入し、10mlのインターリュウキン-12誘導剤の液剤を製造した。

10 【0112】(薬剤製造例9) 30mgの実施例化合物3に生理食塩水を加え全量を10mlとし、これを薬剤製造例7と同様なアンプルに封入し、10mlのインターリュウキン-12誘導剤の液剤を製造した。

【0113】(薬剤製造例12) 30mgの実施例化合物6に生理食塩水を加え全量を10mlとし、これを薬剤製造例7と同様なアンプルに封入し、10mlのインターリュウキン-12誘導剤の液剤を製造した。

【0114】

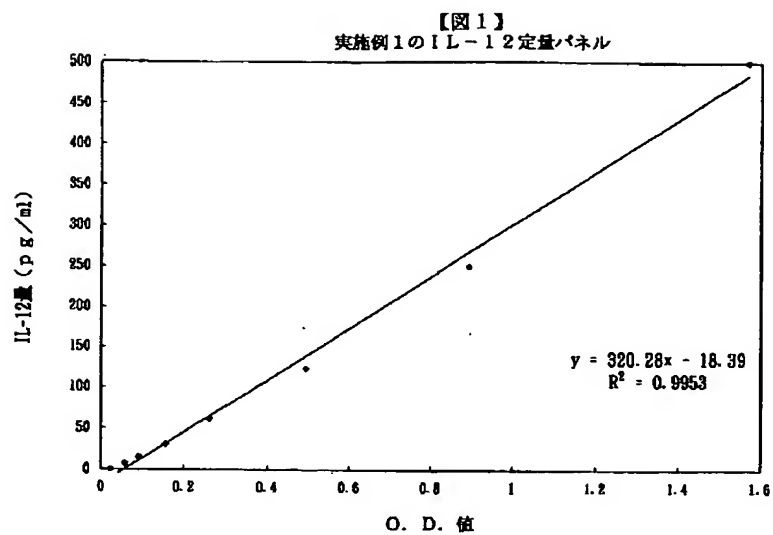
【発明の効果】本発明により硫酸化オリゴ糖配糖体はサイトカインの一つであるIL-12の誘導作用を有することが判明し、これを有効成分とする低毒性で、経口投与可能な、IL-12誘導剤を提供する事が出来る。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1の試験のIL-12の定量パネルである。

【図2】実施例2の試験のIL-12の定量パネルである。

【図1】



【図2】

